

2. Луцкая, И.К. Эстетическое восстановление жевательной группы зубов / И.К. Луцкая, Н.Н. Новак, В.В. Горбачев // Современ. стоматология. – 2006. – №2. – С. 54-57.
3. Князева, М.А. Сравнительная характеристика восстановления передней группы зубов методом пломбирования и композитными винирами, изготовленными непрямым способом / М.А. Князева, В.В. Качула // Паринские чтения 2014 : сб. тр. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Минск, 10-11 апр. 2014 г.
4. Сравнительная характеристика восстановления передней группы зубов прямым и непрямым способом / М.А. Князева [и др.] // Материалы 66 итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, 17-18 апр. 2014 г. – Витебск : ВГМУ, 2014. – С. 272-273.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРИОДОНТИТА, ВЫЗВАННОГО БАКТЕРИЯМИ, ОБРАЗУЮЩИМИ БИОПЛЕНКУ

Колчанова Н.Э., Окулич В.К.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. В настоящее время в Республике Беларусь распространенность болезней пародонта в возрастной группе 35-44 года остается высокой и колеблется по данным эпидемиологических исследований различных авторов от $92,5 \pm 2,95\%$ до 100% [1].

В последние десятилетия постепенно на смену концепции планктонных форм микробного возбудителя заболеваний пародонта пришли теории ассоциации микробных сообществ – биопленок (БП). Многие аспекты функционирования данной многоуровневой системы, их поразительная устойчивость к физическим и биохимическим воздействиям, включающим антибиотикорезистентность [2], до сих пор остаются не изученными.

Цель исследования – оценить способность микроорганизмов пародонтального кармана образовывать бактериальные сообщества и определить степень разрушения их экзополимерного матрикса антисептиками и ферментами.

Материал и методы. С целью изучения продукции биопленки бактериями пародонтальной микрофлоры было обследовано 89 пациентов с хроническим пародонтитом и 25 практически здоровых лиц, от которых выделено, идентифицировано и изучено 83 клинических изолята.

Для определения способности изолятов к образованию БП был использован разработанный ранее метод с применением 96-луночного полистиролового пластикового планшета [3]. Для пересчета единиц оптической плотности в вес микробной БП в мкг на одну лунку 96-луночного полистиролового плоскодонного планшета, использовалась следующая формула:

$$X = 226,28 * [E_{\text{оптическая плотность пробы}} - E_{\text{оптическая плотность контроля}}]^{1,2755}$$

Идентификацию аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов проводили с помощью тест-систем на автоматизированном биохимическом анализаторе ATB Expression фирмы «bioMérieux».

Биопленки получали после культивирования в течение 3 суток, используя клинический изолят *S. oralis* выделенный от пациента с хроническим пародонтитом.

Для оценки способности антисептиков, ферментов расщеплять экзополимерный матрикс БП использован, разработанный ранее метод [4]. Для пересчета единиц оптической плотности в мкг/мл выделенного Конго-красного использовалась формула:

$$X = (0,101 + 11,04 * [E_{\text{оптическая плотность пробы}} - E_{\text{оптическая плотность контроля}}])^2$$

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета прикладных таблиц «Statistica» (Version 10, StatSoft Inc., США).

Результаты исследования. Установлено, что большинство возбудителей хронического пародонтита способны формировать биопленки. В ходе исследований произведена количественная оценка способности возбудителей инфекции формировать БП в 96-луночном полистироловом планшете, что представлено в таблице 1.

Таблица 1. Качественные и количественные характеристики способности бактерий периодонтального кармана формировать биопленку

Микроорганизм	n	Масса БП Ме (LQ - UQ), мкг/лунку	min	max	% бактерий не образующих БП
<i>Streptococcus oralis</i>	26	9,6 (6,11-12,3)	1,34	35,1	19
<i>S. mutans</i>	3	10,8 (9,5-16,8)	9,5	22,9	0
<i>S. sanguis</i>	11	8,7 (4,9-16,1)	3,3	27,9	36,4
<i>S. mitis</i>	10	6,9 (5,5-10,2)	2,9	15,5	10
<i>S. anginosus</i>	7	8,7 (5,2-11,9)	4,8	20,5	28,6
<i>G. morbillorum</i>	7	6,3 (3,71-4,2)	2,3	38	14,3
<i>L. lactis</i>	6	5,4 (4,9-5,8)	4,8	20,5	33,3
<i>S. epidermitidis</i>	13	10,3 (8,1-11,3)	5,3	11,8	23

Согласно полученным результатам среди выделенных штаммов лучше всего образуют БП *S. mutans* и эпидермальный стафилококк ($p > 0,05$).

С использованием разработанной модели изучено действие наиболее часто используемых антисептиков на матрикс БП *S. oralis*, меченый Конго красным (таблица 2). Все антисептики исследовались в $\frac{1}{2}$ дифференцирующей концентрации при экспозиции 30 минут. Обнаружено, что наиболее активным в отношении матрикса биопленки *S. oralis*, меченого Конго красным, оказался диметилсульфоксид (димексид) $20,47 \pm 0,84$ мкг/мл. Антисептики, у которых не было выявлено активности, в таблицу не включены: септомирин (мирамистин), стоматидин (гексетидин), хлоргексидин биглюконат 0,05%, «Белодез» (гипохлорит натрия 3%), фурациллин и йодиксин.

Таблица 2. Способность антисептиков к разрушению экзополимерного матрикса биопленки *S. oralis*

Антисептик	<i>S. oralis</i> M \pm σ , мкг/мл
Диметилсульфоксид 25%	$20,47 \pm 0,84$
Перекись водорода 3%	$0,158 \pm 0,01$
Цетилпиридиния хлорид	$0,23 \pm 0,02$
«Белсол» (хлоргексидин биглюконат 2%)	$0,05 \pm 0,02$

Также была исследована способность аскорбиновой кислоты и ацетилцистеина разрушать матрикс БП. Активность препаратов составила $0,13 \pm 0,02$ и $0,42 \pm 0,04$ мкг/мл соответственно.

Представляется важным определить какие ферменты, особенно присутствующие в биологических жидкостях человека способны расщеплять матрикс БП (таблица 3). Наибольшую способность к разрушению матрикса БП *S. oralis* продемонстрировала гиалуронидаза Ia типа, причем эта активность, вероятно, связана с гидролизом β -N-ацетилгексозаминидных связей гиалуроновой кислоты в составе микробного сообщества. Высокую способность к разрушению матрикса БП продемонстрировал нормальный человеческий альбумин, среди протеолитических ферментов наибольшую активность демонстрирует протеиназа К, ее уровень активности зависит от содержания белков в матриксе биопленки. Низкий уровень активности лизоцима свидетельствует о незначительной доле или полном отсутствии пептидогликана в составе экзополимерного матрикса БП *S. oralis*. Активность по отношению к матриксу БП демонстрируют и другие ферменты, но учитывая их общий низкий уровень, они малопригодны для практического применения.

Таблица 3. Способность ферментов к расщеплению экзополимерного матрикса биопленки *S. oralis*

Фермент	<i>S. oralis</i> M \pm σ , мкг/мл
Альбумин (0,1 мг в пробе)	3,1 \pm 0,41
Трипсин (bovine pancreas)	0,37 \pm 0,06
Пепсин (человеческий)	0,14 \pm 0,029
Альфа-амилаза (porcine pancreas)	0,12 \pm 0,08
Гиалуронидаза Ia (тестикулярного типа)	1,66 \pm 0,2
Гиалуронидаза IIIa (стрептококковая)	0,1 \pm 0,04
Лизоцим (human)	0,013 \pm 0,012
Пероксидаза (horseradish)	0,054 \pm 0,06
Протеиназа K (tritrachium album)	2,26 \pm 0,07
Рибонуклеаза (bovine pancreas)	0,014 \pm 0,011
ДНКаза	0,18 \pm 0,1
Папаин (Carica papaya)	0

Ферменты, которые показали наибольшие значения активности при расщеплении БП *S. oralis*, были исследованы в комбинации для выявления их возможного сочетанного применения. Из полученных данных следует, что при комбинации ферментов происходит снижение их активности.

Выводы.

1. Установлено, что среди изолятов выделенных от пациентов с хроническим периодонтизом более высокий продуцент матрикса биопленки *Streptococcus mutans* и эпидермальный стафилококк, однако различия по сравнению с другими бактериями недостоверны ($p > 0,05$).

2. С помощью предложенной экспериментальной модели биопленки, меченой Конго красным, обнаружено, что среди антисептиков, широко распространенных в клинической практике, наиболее эффективен в отношении биопленки, образованной *S.oralis*, 25% диметилсульфоксид, активность которого проявляется в первые секунды взаимодействия. Среди исследованных ферментов наибольшая активность наблюдалась у гиалуронидазы Ia типа, оптимальное время экспозиции 20 с.

Литература:

1. Манак, Т.Н. Микрофлора полости рта и ее роль в развитии заболеваний периодонта / Т. Н. Манак // Стом. журн. – 2012. – Т. XIII, № 3. – С. 178-181.
2. Антибиотикорезистентность биоплёночных бактерий / И.В. Чеботарь [и др.] // Клин. микробиол. антимикроб. химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 51-58.
3. Метод лечения гнойных ран мягких тканей, вызванных возбудителями, способными формировать биоплёнку: инструкция по применению №076-0714 ; утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь от 10.09.2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; авт.- сост. В.И. Петухов, В.К. Окулич, В.П. Булавкин, А.А. Кабанова, Ф.В. Плотноков. – Витебск : ВГМУ 2014. – 10 с.
4. Оценка способности сывороток крови, иммуноглобулинов G пациентов с гнойно-воспалительными процессами и ряда ферментов к разрушению экзополимерного матрикса биопленок / В.К. Окулич [и др.] // Хирургия. Восточная Европа. – 2014. – №3 (11). – С. 9-17.

ПОВЫШЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭМАЛИ К КАРИЕСОГЕННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ МАЛЫМИ ДОЗАМИ L-ТИРОКСИНА

Масюк Н.Ю., Городецкая И.В.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. Кариез зубов является одним из самых распространенных патологических состояний, поскольку наблюдается почти у всего взрослого населения. Установлено, что в его